



Набор для определения инфекции *Treponema Pallidum* гемагглютинационным тестом (TPHA)

Каталог. № : 401040
Производитель : DIALAB (Австрия)

Методика от 10-2008
Версия 04

Внимание: основой при проведении анализа является оригинал инструкции на англ. языке.

Геагглютинационный реагент

Диагностический реагент для качественного и полуколичественного определения в человеческой сыворотке или плазме специфических антител к *Treponema Pallidum*.

401040	100 тестов	1 фл. исследуемых клеток; 7,5 мл 1 фл. исследуемых клеток; 7,5 мл 2 фл. разбавителя 10 мл 1 фл. положит. контроля, 1 мл 1 фл. отрицат. контроля, 1 мл
408050	200 тестов	2 фл. исследуемых клеток; 7,5 мл 2 фл. исследуемых клеток; 7,5 мл 4 фл. разбавителя 10 мл 1 фл. положит. контроля, 1 мл 1 фл. отрицат. контроля, 1 мл
408060	500 тестов	1 фл. исследуемых клеток; 37,5 мл 1 фл. исследуемых клеток; 37,5 мл 2 фл. разбавителя 50 мл 1 фл. положит. контроля, 5 мл 1 фл. отрицат. контроля, 5 мл
MP041	5 x 96 тестов	Микротитрационный планшет с 96 лунками в каждом, с плоским дном, заказывается отдельно

ПАРАМЕТРЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Метод: геагглютинация
Температура: 18-25°C
Образец: сыворотка или плазма
Диагност. чувствит.: 99,5%

Диагност. специф.: 100%
Эффект прозоны: $\geq 1/163840$
Интерпретация: визуальная

СОСТАВ РЕАГЕНТОВ

Клетки для исследования

Стабилизированная суспензия птичьих эритроцитов, синтезированных с антигенами *T. Pallidum*. pH 7,2
Азид натрия 0,95 г/л

Контрольные клетки

Стабилизированная суспензия птичьих эритроцитов, pH 7,2
Азид натрия 0,95 г/л

Разбавитель

Фосфатный буферизованный солевой раствор, pH 7,2
Экстракт *T. pallidum*
Азид натрия 0,95 г/л

Положительный контроль

Иммунная человеческая сыворотка разбавленная 1:20
Азид натрия 0,95 г/л

Отрицательный контроль

Сыворотка кролика
Азид натрия 0,95 г/л

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Реагенты содержат азид натрия (0,95 г/л) в качестве консерванта. Не глотать! Избегать контакта с кожей и слизистыми.
- Соблюдать необходимые предосторожности при использовании лабораторных реагентов.
- Компоненты человеческого происхождения были проверены на наличие HBsAg, вируса гепатита С и антител к ВИЧ (1/2): реакции отрицательны. Тем не менее, необходимо соблюдать осторожность при работе с ними, считая потенциально инфекционными.

КАЛИБРОВКА

Чувствительность реагента откалибрована 1-м международным стандартом для сифилитической сыворотки (ВОЗ).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора будут оставаться стабильными до окончания срока годности на этикетке, при хранении в плотно закрытыми при температуре 2-8°C и отсутствии загрязнений во время их использования. Не замораживать: замороженные реагенты могут изменить функциональность исследования. Хранить флаконы в вертикальном положении. Горизонтальное положение может привести к скоплению клеток. Ухудшение качества реагентов: наличие скоплений, частиц и мутности.

ОБРАЗЦЫ

Свежая сыворотка или плазма. Стабильность 8 дней при температуре 2-8°C или 3 месяца при температуре -20°C. Образцы с наличием фибрина должны быть отцентрифугированы до исследования. Не используйте сильно гемолизированные или липемические образцы.

ВЛИЯЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Не влияют до:
Гемоглобина 10 г/л
Билирубина 20 мг/дл
Липидов 10 г/л
Ревматоидных факторов 300 МЕ/мл.
Возможно влияние других веществ⁵.

ПРОЦЕДУРА

Качественный метод

- Позволить всем реагентам и образцам достичь комнатной температуры.
- разбавить сыворотку 1:20 разбавителем (10 мкл сыворотки + 190 мкл разбавителя).
- Раскапать в соответствующие лунки микротитрационного планшета:

Образец 1:20 или контроля (мкл)	25	25
Контрольные клетки (мкл)	75	-----
Исследуемые клетки (мкл)	-----	75

- Тщательно смешайте содержимое микропланшета до полной гомогенизации вещества.
- Накройте микропланшет и инкубируйте при комнатной температуре в течении 45-60 мин.
- Осмотрите макроскопически образцы агглютинации клеток.

Полуколичественный метод

- Сделайте двукратное разбавление разведенного разбавителем 1:20 образца.
- Исследуйте каждое разбавление как описано в качественном методе.

СЧИТЫВАНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

Считайте результаты сравнивая образцы агглютинации тестовых клеток с контрольными клетками. Считывания суммируются и выводятся исходя из следующих критериев:

Степень геагглютинации	Считывание	Результат
Ровная матовая поверхность клеток, полностью покрывающая дно лунки, иногда с неровными краями	4+	Полож.
Ровная матовая поверхность клеток, покрывающая часть дна лунки	3+	Полож.
Ровная матовая поверхность клеток, окруженная красным кругом	2+	Полож.
Ровная матовая поверхность клеток, покрывающая меньшую часть и окруженная меньшим красным кругом	1+	Полож.

Совокупность клеток, имеющая маленькую дырку в центре	+/-	Граничн.
Достаточно компактная совокупность клеток, иногда с очень маленькой дыркой дырку в центре	-	Отриц.

Отрицательный контроль не должен показывать никакого шаблона агглютинации с тестовыми и контрольными клетками.

Положительный контроль должен только показывать шаблоны агглютинации с тестовыми клетками.

Любой образец агглютинации, показанный контрольными клетками указывает на присутствие неспецифических антител и не может интерпретироваться. Образцы с граничным шаблоном должны повторно анализироваться и представлены как отрицательные при репродукции того же образца.

Реактивные образцы должны быть титрованы следуя полуколичественному методу. Титр сыворотки в полуколичественном методе определяется как наибольшее разведение, которое еще показывает положительный результат.

Клинический диагноз не должен основываться на данных одного результата теста, а должен согласовываться с результатами клинических и лабораторных данных.

ПРИНЦИП АНАЛИЗА

TPNA (гемагглютинация *Treponema Pallidum*) является непрямым гемагглютинационным тестом для качественного и полуколичественного определения специфических антител к *T. pallidum* в сыворотке крови человека. Стабилизированные птички эритроциты, сенсibilизированные с антигенным раствором *T. pallidum*, агглютинируются в присутствии антител к *T. Pallidum*, предавая характерную форму.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Сифилис является венерическим заболеванием, вызванным инфекцией *T.pallidum*. Передача инфекции происходит при непосредственном контакте с продуктивным местом поражения. Инкубационный период длится около 20 дней и заболевание прогрессирует в 3 различных этапах с разной симптоматикой. Антитела к *T. Pallidum* появляются на первом этапе и могут сохраняться в 85-90% пациентов, после того как они прошли терапию и вылечились.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитическая чувствительность: Точное определение титра референтного материала при соблюдении вышеуказанных условий анализа (См. КАЛИБРОВКА).

Эффект прозоны: Эффект прозоны не был обнаружен в титрах до $\geq 1/163840$.

Диагностическая чувствительность: 99,5%.

Диагностическая специфичность: 100%.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Положительный и отрицательный контроли рекомендуются для контроля характеристик процедуры, а также как сравнительных образец для улучшения результата интерпретации.

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Сильно встряхнуть флаконы обеих исследуемых и контрольных клеток непосредственно перед использованием.
2. Не поддавать планшет воздействию вибраций, тепла и прямых солнечных лучей.
3. Образец агглютинации контрольных клеток не должен использоваться в качестве референтного материала для отрицательных результатов, поскольку контрольные клетки дают более компактную совокупность, чем исследуемые клетки.
4. Сыворотки с высоким уровнем антител могут дать образцы агглютинации с очень складчатыми краями.

ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

1. TPNA-тест не может различить антитела к *T.Pallidum* от антител к другим патогенными трепонемами. Рекомендуется, чтобы все положительные результаты подтверждались альтернативными процедурами как FTA-Abs.
2. Ошибочные положительные результаты были описаны с образцами от пациентов с мононуклеозом, проказой, боррелиозом, аутоиммунных заболеваниями и наркоманией.
3. TPNA-тест не является полезным в определении эффективности терапии, так как уровень антител сохраняется долгое время после клинического излечения болезни и тест остается положительным.

РЕГУЛИРОВАНИЕ УТИЛИЗАЦИИ ОТХОДОВ

Ссылайтесь на Ваши местные требования законодательства.

ЛИТЕРАТУРА

(См. в оригинале инструкции).

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:

ЧМП «ДИАМЕБ»
 Ул. Чорновола, 97, г. Ивано-Франковск, 76005
 Тел.: (0342) 775122
 Тел/факс: (0342) 775612
 E-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua